

Über Glykolyse.

IV. Mitteilung.

Von
Otto Cohnheim.

(Aus dem physiologischen Institut in Heidelberg.)
(Der Redaktion zugegangen am 14. Februar 1906.)

Im Jahre 1903 habe ich Versuche¹⁾ mitgeteilt, wonach die Extrakte von Muskeln von Katzen und Hunden ein minimales oder gar kein zuckerzerstörendes Vermögen besitzen. Sie erlangten dieses Vermögen aber dadurch, daß ich gleichzeitig mit den Muskeln das Pankreas derselben Tiere extrahierte: dann wurden bei Bruttemperatur und bei schwach alkalischer Reaktion erhebliche Mengen von Traubenzucker, bis zu 4 g pro Kilogramm Muskeln, so verändert, daß sie durch die üblichen Reaktionen nicht mehr nachgewiesen werden konnten. Pankreasextrakte allein, darin stimmte ich mit allen früheren Beobachtern überein, zeigten keine glykolytische Wirkung. Im folgenden Jahre konnte ich dann mitteilen,²⁾ daß die wirksame Substanz des Pankreas sich nicht wie ein Ferment verhält, sondern wie andere Körper der inneren Sekretion: sie ist kochbeständig und alkohollöslich. Außerdem ergab sich, daß Muskelextrakt und Pankreasaktivator in einem bestimmten quantitativen Verhältnis stehen müssen; ein Überschuß des Pankreasaktivators, und zwar schon ein sehr kleiner Überschuß, verhindert die Wirkung. Diese Überschußhemmung erschwert die Arbeiten über Glykolyse außerordentlich; denn wenn man etwa Pankreasextrakte auf ihre Wirkung prüfen will, und findet keine, so kann das daran liegen, daß sie den betreffenden Körper nicht, es kann aber auch daran liegen, daß sie zuviel von ihm enthalten.

¹⁾ O. Cohnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 396, 1903.

²⁾ O. Cohnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 401, 1904.

Ich werde zunächst meine neuen Resultate mitteilen, und dann erst auf die Einwände eingehen, die inzwischen gegen meine Befunde erhoben worden sind.

An sich wäre es wohl das Nächstliegende gewesen, nach den Umwandlungsprodukten des Zuckers zu forschen und so das chemische Geschehen bei der Glykolyse aufzuklären. Dem stand aber ein Umstand entgegen: ich habe schon in der zweiten Mitteilung Fälle beschrieben, in denen die Muskelextrakte bereits ohne Pankreaszusatz Glykolyse zeigten. In diesen Fällen durfte dann nur ein ganz geringer Zusatz von Pankreas gemacht werden, weil die Menge, die für einen nicht wirkenden Muskel richtig war, hier bereits zu Überschußhemmung führte. Da ich nun den Muskeln nicht ansehen konnte, ob sie schon ohne Zusatz wirksam waren oder nicht, ließ sich eine Untersuchung zunächst nicht durchführen. Es galt vielmehr, entweder die Gesetzmäßigkeiten für das Vorhandensein aktiven oder nicht aktiven Ferments festzustellen oder den in den Muskeln vorhandenen Aktivator zu beseitigen, um damit ein gleichmäßiges Ausgangsmaterial zu bekommen. Ferner war es sehr wünschenswert, an Stelle der Zerschneidung mit der Kossel'schen Schneidemaschine und der Auspressung mit der Buchnerpresse eine weniger mühsame und kostspielige Extraktion zu finden. Ich habe beide Forderungen erfüllen können und will das in dieser Abhandlung beschreiben.

I. Die Extraktion des Ferments aus den Muskeln.

Ich habe in der ersten Abhandlung mitgeteilt, daß ich die Muskeln mit der Kossel'schen Schneidemaschine zerkleinern mußte, um das glykolytische Ferment aus ihnen zu gewinnen. Die früheren Versuche waren aber zu einer Zeit angestellt, als ich die Empfindlichkeit des glykolytischen Fermentes gegen abweichende Reaktion und die quantitativen Beziehungen zwischen Muskelferment und Pankreasaktivator noch nicht kannte. Ich habe daher die Versuche, das Ferment ohne vorherige Zerkleinerung der Muskeln zu extrahieren, wieder aufgenommen.

Zunächst stellte ich fest, daß ich statt einer Lösung von Natriumbicarbonat ebensogut Magnesiumcarbonat in Substanz in beliebigem Überschuß zu den Flüssigkeiten hinzusetzen konnte.

Versuch 1. (3. 11. 04.)

Kater, entblutet und ausgespült. Muskeln mit der Maschine zerschnitten und ausgepreßt. Je 40 ccm Preßsaft = 92 g Muskeln.

Sofort	0,735 g Zucker
Kein Zusatz, NaHCO ₃	0,594 » »
» » MgCO ₃	0,586 » »
1 g Pankreas NaHCO ₃	0,648 » »
1 » » MgCO ₃	0,582 » »

Versuch 2. (7. 11. 04.)

Katze. Wie in Versuch 1. Je 40 ccm = 90 g Muskeln.

Sofort	0,953 g Zucker
Kein Zusatz, NaHCO ₃	0,879 » »
» » MgCO ₃	0,849 » »
Pankreas NaHCO ₃	0,898 » »
» MgCO ₃	0,834 » »

Versuch 3. (10. 7. 04.)

Katze wie in Versuch 1. Je 40 ccm = 80 g Muskeln.

Sofort	1,208 g Zucker
Pankreas NaHCO ₃	1,166 » »
» MgCO ₃	1,169 » »
» CaCO ₃	1,168 » »

Bei allen folgenden Versuchen ist daher Magnesiumcarbonat in Substanz zugesetzt worden und zwar so reichlich, daß die Reaktion dauernd auf Lakmus alkalisch blieb.

Sodann wurden die Muskeln von Katzen oder Rindern ganz frisch entweder nur durch eine Fleischhackmaschine gegeben oder in der Kossel'schen Schneidemaschine zerkleinert und dann in Portionen von 100 g in Wasser oder in Kochsalzlösung aufgeschwemmt in den Brutschrank gestellt. Zu jeder Portion kamen 1 g Traubenzucker, reichlich Magnesiumcarbonat und soviel Toluol, daß nach kräftigem Umschütteln noch eine Schicht Toluol auf der Oberfläche stand. Als Kontrolle wurden 100 g in Wasser aufgeschwemmt und unter Zusatz von 1 g Traubenzucker, viel Chlornatrium und etwas Essigsäure sofort gekocht, die anderen Portionen am nächsten Tage ebenso koaguliert. Dabei war trotz des Salzzusatzes die Enteiweißung oft erschwert, das Filtrat wurde nicht völlig klar, zeigte bisweilen

Andeutungen von Biuretreaktion, sodaß die Genauigkeit der Zuckerbestimmung zu wünschen übrig ließ.

Versuch 4. (10. 11. 04.)

Kater, mit Äther getötet. Muskeln nur durch Fleischhackmaschine. Ansetzen mit Kochsalz.

Sofort	1,162 g
Ohne Zusatz	1,437 »

Versuch 5. (11. 11. 04.)

Hund, Muskeln nur durch Fleischhackmaschine. Ansetzen mit Kochsalz.

Vorher	1,3 g
Nachher ohne und mit Zusatz	1,3 »

Versuch 6. (14. 11. 04.)

Katze, Fleischhackmaschine, Kochsalzlösung.

Vorher	1,13 g
Nachher ohne Zusatz	1,454 »
Mit Zusatz	unbestimmbar.

Versuch 7. (17. 11. 04.)

Katze, durch Äther getötet, Fleischhackmaschine. Mit Kochsalzlösung angesetzt.

Sofort	1,15 g
Kein Zusatz	1,292 »
Pankreas	1,29 »

Versuch 8. (9. 12. 04.)

Katze, Muskeln erst mit Wasser extrahiert, dann in Schneidemaschine geschnitten, mit Wasser angesetzt.

Sofort	1,163 g
Nachher	1,23 »

Versuch 9. (2. 6. 05.)

Katzenfleisch, in der Schneidemaschine zerkleinert, mit Wasser angesetzt.

Sofort	1,44 g
Kein Zusatz	1,33 »
Pankreas	1,3—1,35 »

Versuch 10. (5. 6. 05.)

Katzenfleisch, in der Schneidemaschine zerkleinert, mit Wasser angesetzt.

Sofort	1,385 g
Kein Zusatz	1,282 ›
Pankreas	1,225 ›

Versuch 11. (7. 6. 05.)

Katzenfleisch, Fleischhackmaschine, mit Wasser angesetzt, Luftdurchleitung.

Sofort	1,314 g
Kein Zusatz	1,31 ›
0,3 g Pankreas	1,31 ›
0,5 › ›	1,33 ›

Versuch 12. (8. 6. 05.)

Katzenfleisch, Fleischhackmaschine, mit Wasser und oxalsaurem Natron angesetzt, Luftdurchleitung.

Sofort	1,167 g
Kein Zusatz	1,295 ›
Pankreas	1,22, 1,298, 1,31 ›

Versuch 13. (9. 6. 05.)

Wie der vorige Versuch.

Kein Zusatz	1,083 g
Mit Pankreas	1,19 ›

Versuch 14. (7. 12. 05.)

Katzenfleisch, Fleischhackmaschine, mit Wasser und Oxalat angesetzt.

Sofort	1,21 g
Kein Zusatz	1,24 ›
Pankreas	1,293 ›

Versuch 15. (7. 12. 05.)

Wie der vorige Versuch. Nach anderer Kontrolle die gleiche Zuckermenge im Muskel.

Mit Pankreas 1,231 g.

In den Versuchen, die mit Kochsalzlösung angesetzt waren, fand sich also bald Gleichbleiben, bald Vermehrung des Zuckers, in denen mit Wasser allein bald Vermehrung, bald Verminderung, bald Gleichbleiben. Offenbar geht im Laufe des Versuches irgendwelche reduzierende Substanz in Lösung, vermutlich durch Glykogenspaltung, und dadurch wird eine etwaige Glykolyse verdeckt. Die Methode ist also nicht brauchbar.

Ich extrahierte nun die Muskeln, die nur durch eine

Fleishhackmaschine gegeben, also ganz grob zerkleinert wurden, mit physiologischer Kochsalzlösung, preßte von dem ungelösten Rückstand ab und untersuchte die Flüssigkeit auf Glykolyse.

Versuch 16. (8. 11. 04.)

Katzenmuskeln 2 mal kurz extrahiert.

Sofort	1,147 g	Zucker
Kein Zusatz	1,149	»
Pankreas	1,15	»

Muskeln desselben Tieres über Nacht extrahiert.

Sofort	1,03 g
Kein Zusatz	1,16 »
Pankreas	1,12 »

Versuch 17. (10. 11. 04.)

Kater, 300 g Muskeln mit 600 ccm Kochsalzlösung unter Zusatz von $MgCO_3$ und Toluol im Brutschrank 20 Stunden extrahiert.

Sofort	1,223 g
Kein Zusatz	1,262 »
Pankreas	1,276 »

Muskeln desselben Tieres mit Zusatz von Pankreasextrakt extrahiert.

Sofort	1,42 g
Nachher	1,54 »

Versuch 18. (18. 11. 04.)

Katzenmuskeln mit physiologischer Kochsalzlösung, $MgCO_3$ und Toluol 4 Stunden bei Körpertemperatur extrahiert.

Sofort	1,534 g
Kein Zusatz	1,58 »
Pankreas	1,58 und 1,57 »

Versuch 19. (12. 12. 04.)

Katzenmuskeln. Mit Kochsalzlösung von 0,9% eiskalt extrahiert. Rückstand gefroren, geschnitten, ausgepreßt.

Sofort	0,634 g
Kein Zusatz	0,635 »
Pankreas	0,606 »

Es ließ sich also niemals eine Verminderung feststellen. Ich versuchte daher zunächst, wie Kochsalzlösung zu Preßsaft

hinzugesetzt wirkte, und es ergab sich das überraschende Resultat, daß der Zusatz von Salzlösungen, außer in ganz geringer Menge, die Glykolyse ausgesprochen hemmte.

Versuch 20. (24. 11. 05.)¹⁾

Katzenfleisch, gefroren, mit der Schneidemaschine geschnitten, mit der Buchnerpresse gepreßt. Je 39 ccm = 105 g Muskeln.

Sofort	0,874 g
Kein Zusatz	0,768 „
Pankreas	0,76 „
Pankreas + 200 ccm Wasser	0,747 „
Pankreas + 200 „ Kochsalzlösung	0,856 „

Versuch 21. (16. 12. 05.)

Katzenfleisch, geschnitten, gepreßt. Dazu 0,018 g ClNa zu jeder Portion.

Sofort	1,0 g
Kein Zusatz	0,908 „
Zusatz von Pankreas	0,916 und 0,883 „

Versuch 22. (29. 12. 04.)

Katzenmuskeln mit eiskaltem Wasser extrahiert (s. u., derartige Extrakte sind sonst wirksam). Dazu 0,02 g ClNa pro Portion.

Sofort	0,866 g Zucker
Kein Zusatz	0,847 „
Zusätze	0,8 bis 0,86 „

Versuch 23. (2. 2. 05.)

Rindfleisch, mit kaltem Wasser extrahiert. Keine Zusätze von Pankreas, dagegen von verschiedenen Salzen in blutisotonischer Konzentration. Jede Portion beträgt 500 ccm und enthält das Extrakt von 107 g Muskeln.

Sofort	1,363 g
Zusatz von Wasser	1,200 „
„ „ 4,5 g ClNa	1,28 „
„ „ 4 g ClNa und anderer Salze	
im Verhältnis von Ringer's Lösung	1,251 „
Zusatz von 4,12 g NH ₄ Cl	1,344 „
„ „ 6,54 „ NaNO ₃	1,26 „

¹⁾ Der Versuch ist schon kurz mitgeteilt. Diese Zeitschrift, Bd. XI, III, S. 547, 1905.

Versuch 24. (8. 2. 05.)

Rindfleisch, mit kaltem Wasser extrahiert, je 200 ccm, teils mit Wasser aufgefüllt, teils mit Salzlösungen, sodaß in den 200 ccm die Salze blutisotonisch sind.

Sofort	1,165 g
Wasser	1,041 ·
ClNa	1,01 ·
SO ₄ Na ₂	1,07 ·
NaNO ₃	1,067 ·
Na ₂ C ₂ O ₄	0,973 ·

Auf Grund dieser Resultate habe ich die Extraktion mit Salzlösungen zunächst aufgegeben und die Muskeln mit Wasser extrahiert, von Salzlösungen nur noch Natriumoxalat verwendet. Da ich hierbei Erfolg hatte, bin ich auf die Hemmung durch Salze nicht wieder zurückgekommen, gebe die widersprechenden Resultate einfach wieder, da ich in dieser Arbeit überhaupt mein gesamtes Versuchsmaterial mitteile. Ich verweise aber auch auf Versuch 4—11, in denen die störende Wirkung des Chlornatriums deutlich ist.

Sodann wurden Muskeln mit Wasser von Körpertemperatur extrahiert.

Versuch 25. (28. 11. 04.)

475 g Katzenmuskeln mit Wasser, Toluol und Magnesiumcarbonat 5 Stunden im Brutschrank extrahiert, dann abgepreßt und mit 3,6 g Zucker versetzt.

Sofort	1,107 g
Mit Pankreas	1,13 und 1,108 ·

Rückstand geschnitten und gepreßt. Keine Differenzen.

Versuch 26. (1. 12. 04.)

Katzenmuskeln mit Wasser, Toluol und Magnesiumcarbonat 2½ Stunden im Brutschrank extrahiert, abgepreßt, Zucker zugesetzt.

Sofort	1,34 g
Kein Zusatz	1,36 ·
Pankreas	1,37 und 1,38 ·

Rückstand geschnitten, gepreßt. Keine Glykolyse.

Versuch 27. (11. 12. 04.)

Katzenmuskeln mit Leitungswasser extrahiert, Zimmertemperatur.

Sofort 0,754 g

Kein Zusatz 0,715 »

Zusätze dieselben Zahlen.

Versuch 28. (11. 1. 05.)

Katzenmuskeln, Zimmertemperatur.

Sofort 0,872 g

Kein Zusatz 0,883 »

Pankreas 0,89 bis 0,923 »

Versuch 29. (12. 1. 05.)

Katzenmuskeln. Gekühltes Wasser.

Sofort 0,87 g

Kein Zusatz 0,898 »

Pankreas 0,876 und 0,873 »

Auf diese Weise ließ sich kein oder doch nur wenig Ferment extrahieren. Erst die Extraktion mit eiskaltem Wasser, in dem Eisstücke schwammen, das also während der Extraktion nicht über 0° stieg, führte zum Ziel.

Versuch 30. (5. 12. 04.)

Katzenmuskeln, 2½ Stunden extrahiert, abgepreßt, Zuckerzusatz.

Sofort 1,21 g

Kein Zusatz 0,994 »

Pankreas 1,006 »

Versuch 31. (9. 12. 04.)

Katzenmuskeln, 4 Stunden extrahiert, abgepreßt, Zuckerzusatz.

Sofort 1,04 g

Kein Zusatz 0,85 »

Pankreas 0,836 und 0,89 »

Bei beiden Versuchen wurde der Rückstand mit der Maschine geschnitten, gab aber nachher keine Glykolyse.

Versuch 32. (30. 1. 05.)

Katzenmuskeln; ein Teil wird mit eishaltigem Wasser extrahiert.

Sofort 1,327 g Verschwunden

Kein Zusatz 1,226 » 101 mg

0,1 g Pankreas 1,223 » 103 »

0,2 » » 1,207 » 120 »

		Verschwunden
0,3 g Pankreas	1,116 g	211 g
0,4 „ „	1,222 „	105 „
0,5 „ „	1,252 „	75 „

Ein Teil derselben Muskeln wird mit Wasser von Zimmertemperatur und Zusatz von Natriumbicarbonat in der von früher berechneten Menge extrahiert.

Sofort	1,357 g
Kein Zusatz	1,345 „
Pankreas	1,344 „

Die übrigen, zahlreichen Versuche, in denen die Muskeln einfach mit eiskaltem Wasser extrahiert wurden, habe ich in umstehender Tabelle vereinigt. Dazu kommen noch die später aufgeführten Versuche 63, 66—69, 85—87.

Die zu den Versuchen dienenden Katzen wurden durch Äther betäubt und durch Durchschneiden des Halses getötet, wobei ja eine erhebliche Menge Blut in den Gefäßen zurückbleibt. Das Rindfleisch, meist vom Vorderbein stammend, wurde frisch vom Schlachthaus geholt und kam noch vor stärkerer Abkühlung und vor Eintritt der Totenstarre zur Verarbeitung. Meist zuckten die Muskeln noch beim Durchschneiden. Das Fleisch wurde zweimal durch eine Fleischhackmaschine gegeben und kam dann sofort in das eiskalte Wasser mit und ohne Zusatz von Magnesiumcarbonat. Nach 1½ bis 4 Stunden wurde die Flüssigkeit durch Gaze gegossen und der Rückstand mit der Hand abgepreßt. Die Menge Wasser und Eis wurde so gewählt, daß auf 100 g Muskeln etwa 180—220 ccm, in einigen Fällen auch etwas mehr Extrakt gewonnen wurden. Die in der Tabelle aufgeführten Zahlen beziehen sich stets auf 100 g Muskeln. Anfangs habe ich den Traubenzucker zu dem gesamten Extrakte zugesetzt, von Versuch 46 an dagegen zu jeder Portion genau 1 g Traubenzucker hinzugefügt. Wie die Zahlen der 4. Spalte zeigen, enthält der Muskelextrakt eine bestimmte und zwar wenig schwankende Menge reduzierender Substanz.

Wie man sieht, zeigt der Wasserextrakt von Rindsmuskeln in allen Fällen eine beträchtliche Verminderung der reduzierenden Substanz, die zwischen 1,7 und 3,7 g pro Kilo schwankt. Katzenmuskeln zeigen im allgemeinen eine schwächere, aber

auch stets deutliche Glykolyse. Über die Verhältnisse bei Pankreaszusatz siehe unten S. 277.

Ver- suchs- num- mer	Datum	Tierart	Sofort unter- sucht g	Kein Zusatz von Pankreas g	Glykolyse ohne Zusatz mg	Mit Zusätzen von Pankreas mg
33	12. 12. 04	Katze	0,903	0,86	43	49
34	20. 12.	»	0,775	0,683	92	132—120
35	13. 1. 05	»	0,87	0,844	26	60
36	16. 1.	Rind	0,886	0,7	186	144—154
37	19. 1.	»	0,901	0,724	177	253
38	23. 1.	»	0,864	0,529	335	234—91
39	25. 1.	»	1,032	0,866	266	279—22
40	26. 1.	Katze	1,630	1,535	95	100
41	1. 2.	»	1,35	1,282	68	70—82
42	7. 2.	Rind	1,127	0,742	385	460
43	8. 2.	»	1,238	0,86	378	322 u. 274
44	10. 2.	Katze	1,207	1,181	26	57
45	14. 2.	»	1,268	1,188	80	114—98
46	28. 2.	Rind	1,194	0,942	252	209—305
47	6. 3.	»	1,172	0,936	236	191—582
48	8. 3.	»	1,188	0,977	211	196—90
49	10. 3.	»	1,175	0,838	337	47—364
50	8. 5.	Katze	1,164	1,091	73	75—46
51	10. 5.	»	1,200	0,988	212	98—174
52	11. 5.	»	1,205	1,068	137	110—167

In den Wasserextrakt ging bei den Katzen eine gewisse Menge von Hämoglobin und anderem Eiweiß über, von den spezifischen Muskeleiweißkörpern dagegen wenig. Während des Stehens im Brutschrank setzte sich ein unbedeutender Niederschlag ab. Rindfleisch lieferte anscheinend weniger Niederschlag, dagegen mehr Hämoglobin.

Ich habe dann weiterhin Versuche gemacht, die Muskeln statt mit Wasser mit einer blutisotonischen Lösung von Natrium-

oxalat zu extrahieren, das als einziges der untersuchten Neutralsalze keine störende Wirkung gezeigt hatte.

Versuch 53. (21. 2. 05.)

Rindfleisch, mit Eis und Oxalatlösung kurz extrahiert, abgepreßt, Rückstand mit Eis und Wasser extrahiert.

Sofort	1,084 g
Kein Zusatz	1,076 ›
Pankreas	0,973 bis 1,077 ›

Versuch 54. (24. 2. 05.)

Rindfleisch. Mit Oxalat und Eis extrahiert, abgepreßt.

Sofort	1,111 g
Kein Zusatz	1,100 ›
Pankreas	1,023 ›

Rückstand mit Wasser und Eis extrahiert.

Sofort	1,095 g
Kein Zusatz	1,027 ›
Zusätze	1,025 bis 1,085 ›

Versuch 55. (27. 2. 05.)

Rindfleisch. Mit Eis und Oxalat extrahiert.

Sofort	1,055 g
Kein Zusatz	1,027 ›
Pankreas	1,004 ›

Rückstand mit Wasser extrahiert.

Sofort	1,072 g
Kein Zusatz	1,049 ›
Pankreas	1,036 ›

Versuch 56. (13. 3. 05.)

Rindfleisch, mit Natriumoxalatlösung und Eis extrahiert.

Sofort	1,100 g
Kein Zusatz	1,095 ›
Pankreas	1,094 bis 1,1 ›

Rückstand mit Wasser extrahiert.

Sofort	1,100 g
Kein Zusatz	1,145 ›
Pankreas	1,12 bis 1,133 ›

Versuch 57. (2. 6. 05.)

Katzenmuskeln. Extraktion mit Eis und Oxalatlösung.

Sofort	1,165 g
Kein Zusatz	1,173 ›
Pankreas	1,183 und 1,185 ›

Versuch 58. (5. 6. 05.)

Katzenmuskeln. Extraktion mit Eis und isotonischer Oxalatlösung.

Sofort	1,125 g
Kein Zusatz	1,204 •
Pankreas	1,162 und 1,214 •

Rückstand mit Maschine geschnitten, s. Versuch 10.

Versuch 59. (9. 12. 05.)

Katzenmuskeln. Extraktion mit isotonischer Oxalatlösung, Eis und etwas Pankreas gibt 1,06 g. In der gewöhnlichen (s. u.) beschriebenen Weise extrahiert geben dieselben Muskeln 0,876 g.

Versuch 60. (15. 12. 05.)

Katzenmuskeln, mit isotonischer Oxalatlösung und Eis im Schüttelapparat extrahiert.

Sofort	1,01 g
Kein Zusatz	1,068 •
Pankreas	1,064 •

Versuch 61. (15. 12. 05.)

Katernmuskeln, im Schüttelapparat mit isotonischer Oxalatlösung und Eis extrahiert.

Sofort	1,034 g
Kein Zusatz	1,126 •
Pankreas	1,117 •
Mit Pankreas extrahiert	1,177 •

Bei diesen Versuchen ließ sich also selten eine Verminderung, oft aber eine beträchtliche Vermehrung der Reduktion beobachten, die Muskeln verhielten sich so, wie bei den Versuchen 4—15, bei denen ich sie nicht extrahiert, sondern mit Wasser oder Kochsalzlösung angesetzt hatte. Am nächsten lag die Vermutung, daß auch hier irgendwelche Substanz in Lösung gegangen war, die sich während des Versuches in eine reduzierende Substanz verwandelte. Und dem entsprach die sonstige Beschaffenheit der Muskelextrakte. Es geht nämlich in die oxalathaltigen Extrakte viel mehr Eiweiß über, als in die anderen. Ich habe quantitative Bestimmungen nicht gemacht, aber der Unterschied ist höchst deutlich zwischen den großen Eiweißmengen, die Oxalatlösungen aus den Muskeln extrahieren, und

der kleinen, hauptsächlich aus Bluteiweiß bestehenden Menge, die in Wasser oder Kochsalzlösungen übergeht. Im letzteren Falle sind die Muskeln beim Abpressen hart und die Extrakte lassen beim Stehen in der Wärme, wie beschrieben, nur einen spärlichen Niederschlag fallen. Die mit eiskalten Oxalatlösungen extrahierten Muskeln sind dagegen glitschig, sodaß sie sich kaum abpressen lassen und ein beträchtlicher Teil der Flüssigkeit in den Muskeln stecken bleibt; am nächsten Tage aber hat sich im Extrakt ein massiger Niederschlag abgesetzt. Anscheinend wird die Myosingerinnung der Muskeln durch das Oxalat hintangehalten. Daß die Totenstarre durch Kalk beschleunigt, durch kalkfällende Mittel gehemmt wird, wußte ich aus früheren Beobachtungen an Oktopodenmuskeln, und auch v. Fürth¹⁾ hat derartiges gesehen. Nebenbei möchte ich bemerken, daß mir bei diesen Beobachtungen schwere Bedenken gegen die heute übliche Auffassung der Muskeleiweißkörper gekommen sind. Ich glaube, daß v. Fürth und die ihm gefolgt sind, bei ihren Extraktionen nur einen sehr geringen Teil der gerinnenden Eiweißkörper in Lösung bekommen und untersucht haben, und auch diese vielleicht schon in verändertem Zustande.

Ich halte es für wahrscheinlich, daß die so sehr viel bessere Extraktion der Muskeln durch eiskaltes Wasser im Vergleich zu der durch Wasser von Zimmer- oder Körpertemperatur ebenso wie die gründlichere Extraktion durch Oxalatlösungen darauf beruht, daß die Totenstarre in der Kälte schwerer und später eintritt. Doch sind natürlich noch andere Möglichkeiten denkbar, z. B. die sehr geringe Löslichkeit des Glykogens in Eiswasser oder die Möglichkeit, daß bei der Extraktion in der Wärme das Ferment schon während der Extraktion verbraucht oder zerstört wird. Auch sei an die Beobachtungen von Herbst an Embryonen erinnert, wonach der Zusammenhang der Zellen untereinander durch Beseitigung des Kalks sich lockert.

Ich habe schließlich folgende Methode ausgearbeitet, um die gründlichere Extraktion der Muskeln durch oxalathaltige Lösungen auszunutzen und gleichzeitig deren Nachteile zu ver-

¹⁾ O. v. Fürth, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XXXVII, S. 389 (1896).

meiden. Ich setzte dem Eis und Wasser eine bestimmte Menge — meist 1—1,2 g pro Versuch, d. h. für 3—800 g Muskeln — oxalsaures Natron zu, extrahierte, fügte dann die berechnete Menge Chlorcalcium hinzu, sodaß gerade alles Oxalat gefällt wurde, schüttelte gut um und preßte dann erst die Flüssigkeit von den Muskeln ab.

Versuch 62. (29. 5. 05.)

Katzenmuskeln.

I. 200 g mit Wasser extrahiert

Vorher 1,155 g

Nachher 1,123 » 32 mg Differenz.

II. 200 g mit Oxalat extrahiert

Vorher 1,21 g

Nachher 1,148 » 62 mg Differenz.

Der Rückstand von I wird nochmals mit Oxalat und etwas Pankreas extrahiert.

Sofort 1,094 g

Nachher 1,065 »

Versuch 63. (26. 6. 05.)

I. 320 g Katzenmuskeln mit Wasser und Eis extrahiert.

Sofort 1,2 g

Kein Zusatz 1,131 » 69 mg Differenz

Pankreas 1,12 » 80 »

II. 320 g Muskeln derselben Katze mit Oxalat und nachfolgendem Zusatz von Chlorcalcium extrahiert.

Sofort 1,215 g

Kein Zusatz 1,053 » 162 mg Differenz

Pankreas 1,02 » 195 » »

Versuch 64. (28. 6. 05.)

Katzenmuskeln mit Oxalat extrahiert, nachher Clorealcium.

Kein Zusatz 1,000 g

Pankreas 0,935 bis 1,076 »

Versuch 65. (30. 6. 05.)

Kater, seit 24 Stunden hungernd, Außentemperatur kalt.
Rindspankreas.

Sofort 1,245 g

Kein Zusatz 0,71 » Verminderung von 535 mg

Pankreas 0,593 » » 652 »

Nach dieser Methode sind die folgenden Versuche angestellt. Sie ist für Katzen- und Rindsmuskeln gut verwendbar, nicht dagegen anscheinend für den Hund (s. u.). Die Muskeln müssen frisch sein; sie zuckten beim Durchschneiden noch. Die Menge der Extraktionsflüssigkeit kann in weiten Grenzen schwanken, ich fand zwischen 170 und 600 ccm pro 100 g keinen Unterschied. Die Extraktionsdauer betrug $1\frac{1}{2}$ bis 4 Stunden, ebenfalls ohne erkennbaren Unterschied. Ich fügte soviel Eis hinzu, daß am Schlusse der Extraktion noch reichlich Eis da war; der Oxalatzusatz ist erwähnt; ich habe außerdem immer noch etwas Magnesiumcarbonat hinzugesetzt. Abgepreßt habe ich den Muskelrückstand durch Gaze mit der Hand. Der erhaltene Extrakt wurde zwecks Mischung gut geschüttelt und dann in gleichen Portionen, die immer ziemlich genau je 100 g Muskeln entsprachen, untersucht. Pro Portion wurden genau 1 g Traubenzucker, Magnesiumcarbonat, 20 ccm Toluol und in den meisten Versuchen (Versuch 91, 100, 107—135) noch 6—10 ccm Chloroform hinzugefügt. Ich habe mich überzeugt, daß man das ja selbst reduzierende Chloroform durch genügend langes Kochen aus der Flüssigkeit entfernen kann. Die Bestimmung der Reduktion nach Pavy wird dadurch nicht gestört.

Was die Haltbarkeit derartiger Muskelextrakte anlangt, so bleibt die glykolytische Fähigkeit erhalten, wenn man sie in der Kältemischung gefroren aufbewahrt.

Versuch 66. (7. 2. 05.)

280, g Rindsmuskeln. Extraktion mit Eiswasser. Der Extrakt wird in 3 Teile geteilt, ein Teil wird sofort koaguliert, 2 Teile kommen erst 24 Stunden in eine Kältemischung, dann 20 Stunden in den Brutschrank.

Sofort 1,127 g Zucker Nachher 0,742 g Zucker

Mit Pankreas 0,667 g Zucker

Auch Stehen in der Kälte, sodaß die Temperatur 0° nicht überschreitet, hebt die Glykolyse nicht auf.

Versuch 67. (17. 2. 05.)

Katzenfleisch. Mit Eiswasser extrahiert.

Sofort 1,17 g Zucker Kein Zusatz 1,112 g Zucker

Pankreas 1,077 g Zucker

Auch Stehen über Nacht bei Eisschranktemperatur vernichtet die Glykolyse noch nicht; wenn sie auch erheblich abgeschwächt erscheint.

Versuch 68. (16. 1. 05.)

Rindfleisch, mit Eiswasser extrahiert. Zeigt sofort eine Reduktionsverminderung von 186 mg pro 100 g, am nächsten Tage eine solche von 66 mg.

Fleisch, wie es vom Schlächter bezogen wird, zeigt keine Glykolyse.

Versuch 69. (17. 1. 05.)

Extraktion mit Eiswasser. Rindfleisch:

Vorher	1,564 g
Nachher	1,561 »

Die Haltbarkeit des glykolytischen Fermentes ist also jedenfalls gering. Versuche, die Extrakte mit Alkohol zu fällen oder die Muskeln direkt in Alkohol einzutragen und den Rückstand in Wasser zu suspendieren, führten zu negativen Resultaten. Ja die Reduktion erwies sich ebenso als vermehrt, wie in den Versuchen, in denen der ganze Muskel mit verwendet wurde (Versuch 4—15). Außerdem war auch hier die Koagulation schwierig und die Reduktionsbestimmung daher wenig genau.

Versuch 70. (15. 11. 04.)

Katze.

Vorher	1,045 g
Nachher	1,044 »
Pankreas	1,075 »

Versuch 71. (28. 11. 04.)

Katze.

Vorher	1,094 g
Nachher	1,183 »
Pankreas	1,17 »

Versuch 72. (19. 1. 05.)

Katze.

Vorher	1,2 g
Nachher	1,37 »
Pankreas	1,34 »

II. Das Auftreten des Ferments in den Muskeln.

Ich habe in der zweiten Mitteilung die Anschauung vertreten, die Wirkung von Muskelextrakten ohne Pankreaszusatz beruhe auf ihrem Blutgehalt. Ich hatte andererseits bei den früheren Versuchen einen wirksamen Extrakt aus den Muskeln erst erhalten, als ich sie mit der Kossel'schen Maschine zerkleinerte. Ich habe daher zunächst eine Reihe von Versuchen gemacht, den in dem Blute, bezw. der Muskellymphe oder sonstwo im Muskel steckenden Aktivator zu extrahieren, das Ferment aber zurückzulassen. Ich extrahierte die Muskeln mit Kochsalz- oder Oxalatlösung; der Rückstand wurde in der Schneidemaschine geschnitten und ausgepreßt, zeigte aber nie Glykolyse.

Versuch 73. (4. 7. 04.)

440 g Rindfleisch wurden mit Kochsalzlösung dreimal extrahiert und abgepreßt, der Rückstand geschnitten und gepreßt. Er gibt (etwas Verluste in der Schneidemaschine) 172 ccm.

Sofort	0,958 g Zucker
Kein Zusatz	0,970 „ „
Pankreasextrakt	0,960 „ „

Versuch 74. (8. 7. 04.)

460 g Rindfleisch genau so behandelt. 170 ccm Preßsaft.

Sofort	0,930 g Zucker
Kein Zusatz	0,940 „ „
Pankreaszusätze	0,937 und 0,935 „ „

Dasselbe Fleisch gibt ohne Extraktion geschnitten eine Glykolyse von 41 mg ohne, von 50 mg mit Pankreasextrakt.

Versuch 75. (27. 7. 04.)

450 g Muskeln einer Katze gerade so behandelt. 240 ccm Preßsaft.

Sofort	0,884 g Zucker
Kein Zusatz	0,842 „ „
Zusätze	0,836, 0,842, 0,85 und 0,863 „ „

Versuch 76. (18. 11. 04.)

500 g Katzenmuskeln mit Kochsalzlösung und Magnesiumcarbonat behandelt, Rückstand in der Maschine geschnitten, nun von neuem mit Kochsalz extrahiert. Vor- und nachher mit und ohne Pankreas je 1,0 g.

Versuch 77. (28. 11. 04.)

475 g Katzenmuskeln mit Wasser und Magnesiumcarbonat extrahiert, Rückstand mit der Maschine geschnitten und mit Wasser angesetzt. Vor- und nachher mit und ohne Pankreas je 0,91 g.

Versuch 78. (1. 12. 04.)

800 g Katzenmuskeln mit körperwarmem Wasser und Magnesiumcarbonat extrahiert. Rückstand in der Maschine geschnitten, gepreßt. Mit und ohne Pankreas vor- und nachher je 0,84—0,86 g.

Versuch 79. (5. 12. 04.)

286 g Katzenmuskeln mit kaltem Wasser extrahiert, Rückstand in der Maschine geschnitten, in Wasser aufgeschwemmt. Vorher 1,04, nachher mit und ohne Pankreas 1,1 g.

Versuch 80. (12. 12. 04.)

300 g Katzenmuskeln mit kaltem Wasser extrahiert, Rückstand in der Schneidemaschine geschnitten, gepreßt. Preßsaft vorher 0,823, nachher 0,827 g.

Versuch 81. (12. 12. 04.)

300 g Katzenmuskeln mit Kochsalzlösung extrahiert, Rückstand in der Schneidemaschine geschnitten, gepreßt. 115 ccm Preßsaft.

Vorher	0,634 g
Kein Zusatz	0,635 „
0,32 g Pankreas	0,606 „

Versuch 82. (10. 5. 05.)

850 g Katzenfleisch mit eiskaltem Wasser extrahiert, Rückstand von neuem mit Wasser extrahiert. Das zweite Extrakt verwendet.

Vorher	1,105 g
Nachher bei wechselnden Zusätzen	1,088 bis 1,109 „

Versuch 83. (11. 5. 05.)

Genau so angestellt. Bei der Herstellung des zweiten Extraktes wird das Pankreas der Extraktionsflüssigkeit zum Teil gleich zugesetzt. Gar keine Differenzen.

Auch gehören hierher die Versuche 53, 54, 55, 56, 58

und 8, bei denen erst mit Oxalatlösung, dann mit Wasser extrahiert wurde.

Als ich auf diese Weise nicht zum Ziel kam, versuchte ich in Analogie zu den Versuchen von Magnus¹⁾ den Aktivator aus dem Muskelextrakt durch Dialyse zu entfernen.

Versuch 84. (10. 2. 05.)

Extrakt von Rindermuskeln, der ohne Zusatz eine Zucker-
verminderung von 26, mit Pankreas von 57 mg zeigt, wird
24 Stunden unter Zusatz von Eis gegen eiskaltes Leitungswasser dialysiert.

Sofort	1,61 g Zucker
Ohne Zusatz	1,61 „ „
Mit Zusatz	1,65 „ „

Versuch 85. (16. 2. 05.)

470 g Rindfleisch werden extrahiert, unter Eiszusatz gegen
oft gewechseltes Leitungswasser 24 Stunden dialysiert.

Sofort	1,229 g
Ohne Zusatz	1,061 „
0,1 g Pankreas	1,008 „
0,3 „	0,953 „
0,4 „	0,984 „

Versuch 86. (17. 2. 05.)

Katzenfleisch, 270 g, werden extrahiert und eiskalt 24
Stunden gegen wiederholt gewechseltes eiskaltes Wasser im
Dunkeln dialysiert.

Sofort	1,034 g
Ohne Zusatz	1,05 „
Mit Pankreas	1,05 „

190 g desselben Katzenfleisches, ebenso behandelt, nur
im Hellen dialysiert.

Kein Zusatz	1,075 g Zucker
0,3 g Pankreas	1,07 „ „

270 g desselben Fleisches nicht dialysiert.

Sofort	1,17 g Zucker
Kein Zusatz	1,112 „ „
0,3 g Pankreas	1,077 „ „

¹⁾ R. Magnus, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 149 (1904).

Versuch 87. (21. 2. 05.)

280 g Rindfleisch wurden in Eiswasser gegen Eiswasser im Dunkeln dialysiert.

Sofort	1,058 g
Kein Zusatz	1,020 »
0,3 g Pankreas	1,06 »

280 g desselben Fleisches im Hellen 24 Stunden dialysiert.

Sofort	1,066 g
Kein Zusatz	1,02 »
0,3 g Pankreas	1,00 »

Dasselbe Fleisch, nicht dialysiert:

Sofort	1,084 g
Kein Zusatz	1,076 »

Verschiedene Pankreaszusätze gaben 0,973 bis 1,077 g.

Durch die Dialyse wurde also entweder die glykolytische Wirkung überhaupt geschwächt, oder sie blieb auch ohne Zusatz von Pankreas bestehen. Das Ziel einer Trennung des in den Muskeln vorhandenen Aktivators von dem Ferment wurde nicht erreicht. Vielmehr sprechen alle bisher beschriebenen Versuche sehr gegen die Vorstellung, daß die Muskeln einen von dem Ferment räumlich getrennten, etwa in den Blutgefäßen stehenden Aktivator enthalten. Dasselbe ergibt sich aus den folgenden Versuchen, bei denen Katzen sehr sorgfältig entblutet wurden und die Muskeln doch noch eine erhebliche Glykolyse ohne Zusatz von Pankreas zeigten.

Versuch 2. (7. 11. 04.)

100 g Katzenmuskeln zeigen 74 mg Glykolyse.

Versuch 88. (24. 7. 05.)

Katze, bei der nach dem später Anzuführenden wenig Glykolyse zu erwarten ist, zeigt nach sorgfältiger Durchblutung eine solche von 49 mg pro 90 g.

Versuch 89. (31. 7. 05.)

90 g Katzenmuskeln zeigen ca. 200 mg Glykolyse.

Versuch 90. (31. 7. 05.)

100 g Katzenmuskeln zeigen ca 250 mg Glykolyse.

Versuch 125. (7. 12. 05.)

100 g Katzenmuskeln geben 123 mg Verminderung.

Die Verschiedenheiten der Muskeln in ihrem Gehalt an glykolytischem Ferment beruhen vielmehr offenbar auf dem verschiedenen physiologischen Verhalten der Muskeln. Die nun folgenden Versuche hatten den Zweck, die Bedingungen herauszubekommen, unter denen die Muskeln viel oder wenig glykolytisches Vermögen zeigten. Dabei mußte ich von Rind- oder Schweinefleisch natürlich absehen, da ich das Verhalten und die Ernährung der Schlachttiere ja nicht variieren konnte. Die Versuche sind vielmehr ausschließlich an Katzen angestellt, und es wurde 1. die Temperatur des Raumes variiert, in dem die Tiere bis zum Tode saßen. 2. erhielten die Katzen in der einen Reihe überwiegend Kohlehydrate; sie bekamen Milch, in der reichlich Rohrzucker gelöst war, oder es wurde ihnen Rohrzuckerlösung mit der Schlundsonde gegeben. In der anderen Reihe bekamen sie vorwiegend Fett, nämlich Speck oder Biederts Ramogen oder endlich mit der Schlundsonde Olivenöl. 3. wurden die Katzen entweder in möglicher Muskelruhe, oder während Muskelarbeit getötet, oder endlich sie mußten erst Arbeit leisten, und dann still sitzen. Die Muskelruhe konnte ohne Mühe durch Urethan in der Dosis von 1 bis 1,5 g pro Kilogramm erzielt werden, das Katzen für 2 Tage in Koma versenkt. In intensivste Bewegung versetzte ich die Tiere erst durch kleine Morphindosen, auf die die Katzen stundenlang herumtoben und dann in einen Erschöpfungszustand verfallen. Später setzte ich sie in ein Faß, das um eine horizontale Achse rotierte, sodaß sie gegen die Bewegung des Fasses zu laufen gezwungen waren.

Die Resultate sind in der umstehenden Tabelle zusammengestellt. Sie werden verständlich, wenn man sie unter dem Gesichtspunkt betrachtet, daß die Muskeln der Katzen bald Glykogen, resp. Zucker, bald aber Fett verbrennen. Die Glykolyse ist minimal bei länger dauerndem Hunger (Versuch 95 bis 98, 100), sie ist ebenfalls minimal, wenn man die Muskeln durch Morphinum bis zur Erschöpfung arbeiten läßt, und sie gleich nachher (Versuch 109) oder nach einer Hungerperiode (110—114) tötet.

Ver- suchs- num- mer	Datum	Art der Behandlung	Vor- her Zucker g	Nach- her Zucker g	Differenz mg	Bei Zusatz von Pankreas Differenz mg
92	29. 5. 05	Wärme	1,147	1,122	25	19
93	29. 5.	Desgleichen	1,155	1,123	32	—
94	28. 6.	Wärme, 3 Tage Hunger	—	1,000	ca. 150	ca. 215
95	13. 7.	Desgleichen	1,185	1,100	85	85
96	20. 7.	Desgleichen	—	1,118	ca. 60	—
97	24. 7.	Wärme, 4 Tage Hunger	1,142	1,093	49	16— — 1
98	17. 7.	Wärme, Hunger	1,181	—	—	70— — 14
99(-6)	30. 6.	Wärme, 1 Tag Hunger	1,245	0,71	535	652
100	23. 11.	Kälte, 2 Tage Hunger	1,023	1,025	— 2	0
101	23. 11.	Desgleichen	1,079	0,888	191	269
102	12. 7.	Wärme, Ramogen	1,181	1,187	— 6	—
103	19. 7.	Desgleichen	—	0,883	200—300	—
104	17. 7.	Wärme, Milch, Zucker	1,195	0,970	225	88
105	22. 6.	Desgleichen	1,193	—	—	148—119
106	9. 10.	Urethan	1,129	0,833	296	326—297
107	16. 10.	Desgleichen	1,159	0,886	273	291—153
108	12. 10.	Veronal	1,124	0,983	141	180
109	18. 10.	Morphium, sofort getötet.	1,033	1,046	— 13	—
110	25. 10.	Morphium, nach 2 Tagen getötet	1,123	1,081	42	123
111	27. 10.	Desgleichen	1,120	1,000	120	120—50
112	23. 10.	Morphium, dann Urethan	1,132	1,112	20	42—3
113	24. 10.	Desgleichen	1,111	1,077	34	56—3
114	26. 10.	Desgleichen	1,064	1,085	— 21	— 9
115	2. 11.	Tretrad, sofort getötet	1,106	1,100	6	—
116	6. 11.	Desgleichen	1,090	1,1	— 10	0—18
117	31. 10.	Tretrad, dann Urethan, 3 Tage Schlaf	1,090	1,112	— 22	18
118	31. 10.	Desgleichen	1,099	1,107	— 8	0
119	31. 10.	Desgleichen	1,083	1,036	47	68—35
120	7. 11.	Tretrad, dann Milch und Zucker, Wärme	1,17	0,862	308	290—223
121	10. 11.	Tretrad, dann 1 Tag Wärme und Öl	1,127	0,866	261	258—247

Ver- suchs- num- mer	Datum	Art der Behandlung	Vor- her Zucker g	Nach- her Zucker g	Differenz mg	Bei Zusatz von Pankreas Differenz mg
122	13. 11. 05	Tretrad, dann 1 Tag Wärme und Öl	1,133	0,879	254	277—213
123	13. 11.	Desgleichen	1,074	0,963	111	104
124	15. 11.	Tretrad, dann 3 Tage Wärme und Öl	1,067	0,956	111	136—49
125	7. 12.	Tretrad, dann 1 Tag Wärme und Butter	1,058	0,935	123	233—19
126	7. 12.	Tretrad, dann 2 Tage Wärme und Speck	1,058	1,02	38	96—41
127	15. 12.	Tretrad, Speck, 2 Tage Wärme	1,01	1,068	— 58	— 54
128	15. 12.	Desgleichen	1,034	1,126	— 92	— 83
129	19. 12.	Desgleichen	1,082	1,122	— 40	—
130	19. 12.	Desgleichen	1,08	1,063	17	32
131	19. 12.	Desgleichen	1,094	1,003	91	94—3
132	23. 11.	Kälte, 2 Tage, Milch und Zucker	1,046	0,544	502	438—328
133	23. 11.	Desgleichen	1,044	0,549	495	505
134	4. 12.	Desgleichen	1,140	0,745	395	480—294
135	27. 12.	Desgleichen	1,066	0,978	88	144—33

Sie ist noch geringer, wenn man die Tiere sich im Tretrade ermüden läßt, und sie dann mehrere Tage mit Speck, Butter oder Öl füttert oder hungern läßt (Versuch 126—131, 115—119). Die Glykolyse ist dagegen hoch, wenn man die Tiere nur 1 Tag hungern läßt (Versuch 99) oder sie mehrere Tage in die Kälte setzt, ihnen dabei aber für die reichlichen Bedürfnisse ihrer Muskeln vorwiegend Kohlehydrate, Milch und Rohrzucker anbietet (Versuch 132—135). Auch sonst ist sie bei Ernährung mit Milch meist hoch, indessen stimmen die Versuche nicht sonderlich überein; es ist das kein Wunder, wenn man den wechselnden Glykogenvorrat des Körpers und seinen ohne besondere Untersuchungen schwer zu schätzenden Bedarf bedenkt. Jedenfalls ist man aber imstande, sich nach Belieben Katzenmuskeln zu verschaffen, die sehr hohe oder die so gut wie keine Glykolyse, häufig selbst

eine Vermehrung der Reduktion, zeigen. Im ersteren Falle setzt man die Katzen in ein kaltes Zimmer und gibt ihnen mit Zucker versetzte Milch. Im letzteren Falle ermüdet man sie durch Morphin oder durch Arbeiten im Tretrade und läßt sie dann im warmen Raum hungern oder füttert sie mit Speck, Butter oder Öl. Die Nichtberücksichtigung des physiologischen Zustandes der Muskeln und die dadurch bedingte scheinbare Regellosigkeit der Resultate ist es hauptsächlich gewesen, die Claus und Embden¹⁾ dazu geführt haben, die fermentative Glykolyse in den Muskeln überhaupt zu leugnen und an bakterielle Verunreinigungen zu denken. Ich glaube im Vorhergehenden einen Weg gezeigt zu haben, auf dem jeder Nachuntersucher konstante Ergebnisse erzielen wird.

III. Die Wirkung des Pankreasaktivators.

Was die Darstellung des Aktivators aus dem Pankreas anlangt, so habe ich die in meiner früheren Mitteilung beschriebene Methode nur insofern geändert, als ich fast ausnahmslos Katzenpankreas verwendete und die Extraktion des gekochten Organs mit Alkohol 2—3mal wiederholte, und dadurch gründlicher gestaltete. Ich erhielt so eine Flüssigkeit, die in sehr geringem Volumen sehr viel der wirksamen Substanz enthielt. Ich habe das Pankreas in kochendes Wasser getan, durch Gaze abgepreßt, den Rückstand mehrmals mit Alkohol von 96° extrahiert, die Extrakte mit dem ersten Wasserextrakt vereinigt, auf dem stark siedenden Wasserbad zur Trockene eingedampft — wobei ich mich vor zu starkem Eintrocknen gehütet habe —, den Rückstand mit 96%igem Alkohol aufgenommen und filtriert. Diese alkoholische Lösung habe ich direkt den Muskelextrakten zugesetzt. Bruchteile eines Kubikzentimeters genügen für den Extrakt von 100 g Muskel.

In den bisher mitgeteilten Versuchen habe ich meist die Wirkung des Pankreaszusatzes geprüft und die Ergebnisse schon mit aufgeführt. Die ersten 29 Versuche fallen fort, da in ihnen die Methode der Muskelextraktion noch nicht ausgebildet war.

¹⁾ R. Claus u. G. Embden, Hofmeister's Beitr., Bd. VI, S. 214 und 343 (1905).

Von den andern 106 kommen 82 in Betracht (in Nr. 32, 62, 73—80, 82—84, 88—91, 96, 98, 102, 103, 105, 109, 129 wurden keine Vergleichswerte gewonnen). In ihnen habe ich eine Wirkung nur in 7 Fällen vermißt (Versuch 33, 60, 61, 95, 100, 127, 128), in allen anderen war sie deutlich. Dabei sind allerdings eine ganze Reihe von Versuchen, in denen von vornherein zu große Mengen Pankreas zugesetzt wurden, die Überschüßhemmung sofort einsetzte, und die Wirkung des Pankreaszusatzes daher nur in einer Verminderung der Glykolyse bestand (30, 36, 38, 43, 48, 50, 51, 56, 57, 70, 92, 97, 104, 111, 120, 121, 123, 132). In den übrigen 52 Versuchen war dagegen bei Zusatz von Pankreas stets eine Zunahme, bei steigendem Zusatz erst wieder eine Abnahme der Glykolyse zu beobachten.

Als Beispiele stelle ich die folgenden Versuche, die oben angeführt sind, nochmals zusammen.

Versuch 32. (30. 1. 05.)

Katzenmuskeln. Wasserextrakt. Rindspankreas.

Sofort koaguliert	1,327 g Zucker		
Kein Zusatz	1,226 »	»	(101 mg Glykolyse)
0,1 g Pankreas	1,223 »	»	(104 » »)
0,2 »	1,207 »	»	(120 » »)
0,3 »	1,116 »	»	(211 » »)
0,4 »	1,222 »	»	(105 » »)
0,5 »	1,252 »	»	(75 » »)

Versuch 85. (16. 2. 05.)

Rindsmuskeln. Wasserextrakt, dialysiert. Rindspankreas.

Sofort	1,229 g Zucker		
Kein Zusatz	1,061 »	»	(168 mg Glykolyse)
0,1 g Pankreas	1,008 »	»	(221 » »)
0,3 »	0,953 »	»	(276 » »)
0,4 »	0,984 »	»	(245 » »)

Versuch 125. (7. 12. 05.)

Katzenmuskeln, Extraktion mit eiskalter Oxalatlösung.
Katzenpankreas.

Sofort	1,058 g		
Kein Zusatz	0,935 »	(123 mg Glykolyse)	
0,03 g Pankreas	0,825 »	(233 »	»)
0,05 »	0,904 »	(154 »	»)
0,07 »	1,039 »	(19 »	»)

Versuch 134 (4. 12. 05.)

Katzenmuskeln. Extraktion mit eiskalter Oxalatlösung.
Katzenpankreas.

Sofort	1,140 g		
Kein Zusatz	0,745	› (395 mg Glykolyse)	
0,03 g Pankreas	0,66	› (480	›)
0,05	›	› (331	›)
0,07	›	› (294	›)

Versuch 135 (27. 11. 05.)

Katzenmuskeln. Extraktion mit eiskalter Oxalatlösung.
Katzenpankreas.

Sofort	1,066 g		
Kein Zusatz	0,978	› (88 mg Glykolyse)	
0,05 g Pankreas	0,920	› (144	›)
0,15	›	› (87	›)
0,3	›	› (66	›)
0,45	›	› (34	›)
0,7	›	› (33	›)

Versuch 126 (7. 12. 05.)

Katzenmuskeln. Extraktion mit eiskalter Oxalatlösung.
Katzenpankreas.

Sofort	1,058 g		
Kein Zusatz	1,020	› (38 mg Glykolyse)	
0,03 g Pankreas	1,020	› (38	›)
0,05	›	› (96	›)
0,08	›	› (41	›)

Die Hemmung durch stärkeren Überschuß ist in allen diesen und in vielen anderen Versuchen deutlich. Es ist aber in einigen von ihnen, besonders schön in Versuch 32 und 126, zu sehen, wie die Wirkung des Pankreasaktivators in eigentümlich sprunghafter Weise erst zu-, dann abnimmt, und vor allem, wie klein das Intervall ist, in dem der Pankreasextrakt gut wirkt. In einigen Versuchen habe ich eine eigentümliche Erscheinung beobachtet, daß nämlich bei einer längeren Reihe von steigenden Pankreaszusätzen ein Wechsel zwischen Hemmung und Förderung eintritt.

Versuch 47 (6. 3. 05.)

Rindsmuskeln. Wasserextrakt. Rindspankreas.

Sofort	1,172 g		
Kein Zusatz	0,936	» (236 mg Glykolyse)	
0,1 g Pankreas	0,734	» (438	»)
0,2 »	0,981	» (191	»)
0,3 »	0,954	» (218	»)
0,4 »	0,965	» (207	»)
0,5 »	1,050	» (122	»)
0,6 »	0,92	» (252	»)
0,7 »	0,59	» (582	»)

Versuch 49 (10. 3. 05.)

Rindsmuskeln. Wasserextrakt. Rindspankreas.

Sofort	1,175 g		
Kein Zusatz	0,838	» (337 mg Glykolyse)	
0,1 g Pankreas	1,128	» (47	»)
0,17 »	1,102	» (73	»)
0,23 »	0,896	» (279	»)
0,3 »	1,000	» (175	»)
0,4 »	0,853	» (322	»)
0,5 »	1,062	» (113	»)
0,6 »	1,061	» (114	»)
0,7 »	0,853	» (322	»)
0,8 »	0,811	» (364	»)
0,9 »	0,833	» (342	»)
1,0 »	1,088	» (89	»)

Die Zahlen erscheinen auf den ersten Blick so willkürlich, daß man an Versuchsfehler denken möchte. Da ich aber in anderen Versuchen nie etwas von Bakterienwirkung gesehen habe (s. u.), so erscheint es höchst unwahrscheinlich. Auch liegen die Werte doch nicht durchaus regellos, sondern die hohen und niedrigen ganz oder fast gleich hoch. Worauf die Erscheinung beruht, vermag ich nicht zu sagen. Am nächsten liegt es, anzunehmen, daß sie und die Überschubhemmung überhaupt darauf beruhen, daß in dem Pankreasextrakt 2 Körper vorliegen, einer, der die Glykolyse befördert, und ein anderer, der sie hemmt, oder der die Reduktion irgendwie beeinflußt. Auffallend ist dann nur die übereinstimmende Löslichkeit der beiden vermuteten Körper.

Um einem naheliegenden Einwande zu begegnen, möchte ich bemerken, daß ich mich selbstverständlich davon überzeugt habe, daß der Pankreasextrakt nicht etwa direkt die Reduktion beeinflußt. Differenzen sind immer erst wahrzunehmen, wenn Muskelextrakt, Zucker und Pankreas einige Stunden zusammen waren.

Die Erscheinung der Überschußhemmung und besonders der wechselnden Förderung und Hemmung harret der Erklärung. Aber sie bereitet dem experimentellen Arbeiten große Schwierigkeiten. Denn wenn man nicht große Reihen untersucht, ist es ja der reine Zufall, ob man einen hemmenden, einen fördernden oder etwa gar keinen Einfluß des Pankreasextraktes bekommt. Die negativen Resultate von Claus und Embden beruhen einfach alle auf Überschußhemmung. Ich habe in meiner 2. Mitteilung von 0,8 g Pankreas gesprochen, und die nachuntersuchenden Herren haben daraufhin 0,8 g gekochtes Pankreas zugesetzt. Meine Angabe bezog sich aber auf einen Alkohol-extrakt, in den lange nicht alles übergeht. Durch wiederholte Extraktion des Pankreas erhielt ich unvergleichlich viel wirksamere Extrakte. Ich habe jetzt die einer Pankreasmenge von 0,03 g entsprechende Menge Extrakt am günstigsten gefunden. Darüber hinaus setzt häufig schon die Hemmung ein. Auch ich habe, ehe ich die große Empfindlichkeit des Muskelextraktes gegen ein Zuviel von Pankreas kannte, eine große Reihe von Versuchen erlebt, in denen ich ausschließlich die Überschußhemmung bekam. Ich kann auch niemals sagen, daß ich in den aufgeführten Versuchen das Maximum der Wirkung erzielt habe. Es handelt sich bei allen diesen Angaben um gewissermaßen zufällige Minimalwerte, die dadurch freilich um so sicherer sind. Die Steigerung durch den Pankreaszusatz beträgt in einer Reihe von Versuchen über 100 mg, während mittels der Pavy-Methode 10 mg mit Sicherheit zu bestimmen sind. Die Differenzen sind so groß wie in den früheren Versuchen, in denen ich die Muskeln mit der Schneidemaschine und der Buchnerpresse behandelte: sie sind aber kleiner als in den ersten Versuchen, in denen ich Muskeln und Pankreas gemeinsam ohne Zusatz zerschnitt und auspreßte. Zur Erklärung liegen zwei Möglich-

keiten vor. Entweder ist das fertige Ferment durch die Oxalatomethode ebenso reichlich zu extrahieren, wie mit der Schneidemaschine, das Proferment aber schlechter, oder es wird bei der vorherigen Mischung mit dem Pankreas das richtige Verhältnis zwischen beiden besser getroffen. Entscheidende Erfahrungen hierüber besitze ich nicht, wie ich denn in den hier mitgeteilten Versuchen überhaupt andere Ziele verfolgte, als die Wirkung des Pankreasaktivators möglichst zu erhöhen.

Worin nun eigentlich die Umwandlung des Zuckers besteht, das geht aus diesen Versuchen nicht hervor. Kohlensäure entsteht in geringer Menge, die Reaktion dagegen ändert sich, abgesehen von der kleinen Säuerung, die gleich zu Beginn entsprechend der Totenstarre statthat, nicht. Auch andere Gase entstehen nicht, da sich der Druck in den geschlossenen Flaschen nicht ändert. Nach etwaigen Zwischenprodukten zwischen Zucker und Kohlensäure, wie sie in diesen Versuchen ohne Lufterneuerung als Ergebnisse mangelhafter Oxydation oder Spaltung ohne Oxydation entstehen könnten, habe ich bisher nicht gesucht. Was bei der erheblichen Reduktionsverminderung in den Muskelextrakten vorgeht, ist danach nicht bekannt, sicher aber ist, daß es sich dabei um Eigenschaften der Muskeln handelt und nicht etwa um Verunreinigungen. Bakterien, die Zucker ohne Bildung von Kohlensäure, Wasserstoff und organischen Säuren zersetzen, sind nicht bekannt, in einer mit Toluol und Chloroform in massenhaftem Überschuß versetzten Lösung ist Bakterienentwicklung im Verlauf von 3 bis 20 Stunden jedenfalls ausgeschlossen; dazu kommt die vollkommene Übereinstimmung zahlreicher Parallelversuche und die Übereinstimmung in den einzelnen Versuchen bei wechselnden Zusätzen von Pankreas. Sie ist eine so vollständige, daß an der Gesetzmäßigkeit dieser Erscheinungen wohl nicht zu zweifeln ist.

Ich glaube durch das Vorstehende die gegen meine Versuche erhobenen Einwände widerlegt und folgendes gezeigt zu haben: In Muskelextrakten, die mit Traubenzucker versetzt sind, läßt sich eine von dem physiologischen Verhalten der Muskeln abhängige größere oder kleinere Reduktionsverminderung beobachten. Pankreaszusatz

in geeigneter Menge steigert diese Glykolyse in erheblichem Maße. Diese Glykolyse kann nicht auf äußeren Verunreinigungen, Bakterien o. dgl. beruhen, sie ist vielmehr die Funktion eines in den Muskeln enthaltenen Körpers.

IV. Versuche an entpankreasten Tieren.

Ich habe eine Reihe von Versuchen angestellt, Hunden und Katzen das Pankreas zu extirpieren und ihre Muskel-extrakte auf die An- oder Abwesenheit des glykolytischen Fermentes zu untersuchen, und ich habe dabei eine neue Methode der Pankreasekstirpation angewendet, die mir während meines Petersburger Aufenthaltes vor 3 Jahren Herr Professor Pawlow vorgeschlagen hat, und die sich mir ausgezeichnet bewährt hat.

Bei der Pankreasekstirpation nach v. Mering und Minkowski — und die späteren Untersucher sind ja deren Methodik ohne Abweichungen gefolgt — besteht die große Schwierigkeit bekanntlich darin, die große Vene zu schonen, die in der Substanz des Pankreas längs des Duodenum verläuft. Ihre Verletzung pflegt von Darmgangrän gefolgt zu sein. Professor Pawlow riet mir, die Vene ruhig wegzunehmen und den seiner Gefäße beraubten Darm mit Netz zu umwickeln, damit sich, analog wie bei der Talma'schen Operation, ein Kollateral-kreislauf durch die Netzgefäße herstellt. Die Operation beginnt genau wie bei v. Mering und Minkowski mit der Ausschälung des Pankreaskopfes. Sobald man aber an den Darm kommt, wird das Pankreas einfach stumpf, mit Fingern und Tupfer vom Darm losgemacht. Es ist dabei viel leichter als bei der früheren Methode, das Pankreas total zu entfernen, und auch nicht das kleinste Stückchen zurückzulassen. Der Darm ist dann auf eine beträchtliche Strecke von seinem Mesenterium völlig entblößt. Kleine Blutungen aus dem Darm stillt man besser nicht mit Ligaturen, die in der Serosa nicht haften, sondern mit Umstechungen. Der Schwanz des Pankreas wird wie bisher entfernt. Dann nimmt man das Netz, wickelt es sorgfältig um den Darm, sodaß kein Stück unbedeckt bleibt, und fixiert es mit einigen Nähten. Die Operation ist, wenn

man bei der Loslösung des Pankreas vom Darm rücksichtslos vorgeht, leicht und einfach. Sie dauert eine halbe Stunde und weniger. Darmgangrän habe ich unter mehr als 12 Operationen nur einmal gesehen; die Sektion ergab, daß das umwickelte Netz abgerutscht war. Peritonitis, Abszesse, Platzen der Bauchwunde erlebt man bei den schwer diabetischen Tieren natürlich auch. Doch wirkt die Umwicklung auch einer allgemeinen Peritonitis entgegen. Bei den Tieren, die mehrere Wochen am Leben blieben, war der nicht vom Netz umgebene, meist an der Bauchwand oder der Leber fixierte Darm völlig reizlos, die Schleimhaut aber verdünnt und deutlich verändert. Die Art der Gefäßversorgung verlohnte eine histologische Untersuchung.

Mit den Muskeln dieser pankreaslosen Hunde habe ich nun ebenfalls eine Reihe von Versuchen gemacht. In einem Falle fand ich bei einem erst 3 Tage pankreaslosen Hunde eine geringe Glykolyse, die durch Pankreaszusatz verschlechtert wurde (Versuch 138). In den anderen Fällen fand ich mit und ohne Pankreaszusatz sogar eine Vermehrung der Reduktionskraft. (Versuch 136 und 139). Aber dasselbe fand sich bei einem normalen Hunde. (Versuch 137.)

Ver- suchs- nummer	Datum	Sofort	Kein Zusatz	Mit Pankreaszusatz	
136	15. 2.	1,109	1,173	1,185 und 1,190	8 Tage ohne Pankreas
137	15. 3.	1,173	1,207	1,2 bis 1,285	normal
138	17. 3.	1,198	1,119	1,122 bis 1,193	3 Tage ohne Pankreas
139	21. 11.	1,120	1,120	1,192 bis 1,130	7 Tage ohne Pankreas

Ob die Oxalatmethode für Hundemuskeln nicht anwendbar ist, oder ob ich nur gerade den richtigen Pankreaszusatz nicht getroffen habe, weiß ich nicht. Die früheren Versuche, bei denen die Muskeln geschnitten und entfernt wurden, gaben bei einem entpankreasten Hunde einmal sehr starke Glykolyse auf Pankreaszusatz, in anderen Versuchen dagegen auch nur eine sehr geringe.¹⁾ Jedenfalls bedürfen diese Versuche der

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 336 (1903).

Wiederholung. Bei Katzen ist die neue Methode der Pankreas-
exstirpation leider nicht anwendbar. Wenigstens verlor ich die
7 operierten Katzen am zweiten Tage nach der Operation an
Darmgangrän.

Die sehr kostspieligen Versuche sind mir durch eine
Unterstützung der Königlich Preußischen Akademie der Wissen-
schaften ermöglicht worden.